

## Identification of Biomarker Predictors of Relapse in the era of Treatment Discontinuation in Patients with Chronic Myeloid Leukemia

### Identificación de Biomarcadores Predictores de Recaída en la era de la Suspensión del Tratamiento en Pacientes con Leucemia Mieloide Crónica

Paula Benegas<sup>1,2,\*</sup>; Donovan Rivero<sup>1,2</sup>; Betiana Ziegler<sup>3</sup>;  
Raquel Bengió<sup>3</sup>; Irene Larripa<sup>3</sup>; Pedro Zapata<sup>1,2</sup>; Cristian Ferri<sup>1</sup>

1- Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reca" (INBIOMIS). Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Misiones, Argentina.

2- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina.

3- Laboratorio de Genética Hematológica, IMEX, CONICET, Academia Nacional de Medicina. Buenos Aires, Argentina.

\* E-mail: paulabenegas0@gmail.com

Received: 17/10/2023; Accepted: 10/11/2023

#### Abstract

CML is a chronic myeloproliferative neoplasm that accounts for 15-20% of adult leukemias. It is characterized by reciprocal and balanced translocation between chromosomes 9 and 22 [t(9;22)(q34;q11)], which generates the juxtaposition of the BCR and ABL1 genes originating an oncogenic protein with increased tyrosine kinase activity. The development of ITKs has significantly improved the survival and evolution of the disease owing to its effectiveness in the inactivation of oncogenic protein. Treatment of CML with ITKs can induce durable responses in most patients, however, primary and/or acquired resistance is observed in patients treated with first- and second-generation ITKs. There are several known mechanisms related to the failure of therapy with ITKs, including the acquisition of mutations in the ABL1 kinase domain, amplification of BCR::ABL1 at the genomic level, overexpression of transcripts, and mechanisms independent of BCR-ABL1, such as dysregulated gene expression. In this sense, MET, FOXO3, and CPEBs genes may be involved. The relevance of these genes in patients with CML during treatment with ITKs may be of great importance prior to treatment discontinuation. In this study we analyzed the expression of MET, FOXO3, CPEB1, CPEB2, CPEB3, and CPEB4 during TKI treatment. MET is a transmembrane tyrosine kinase receptor that mediates multiple signaling pathways that promote angiogenesis, proliferation, and cell survival. On the other hand, FOXO3 is a transcription factor involved in cell differentiation, growth and survival. The CPEBs gene family recognizes the cytoplasmic polyadenylation consensus sequence present in the untranslated 3' region of some mRNAs and recruits repression or translation activation machinery, thus indirectly regulating the poly(A) tail length of their target mRNAs. Peripheral blood samples were obtained from 35 patients and 29 healthy controls. Patients were divided into optimal responders (RO, n= 29) and resistant responders (RS, n=16) according to their response to therapy. Relative quantification of transcripts was performed by Real-Time PCR. MET was underexpressed in 55% of patients with a good response to treatment, indicating that therapy may have some action on the MET receptor or its signaling pathways. In contrast, overexpression of FOXO3 was observed in the same group of patients, suggesting that this gene may participate in the treatment response mechanism of the disease. On the other hand, CPEB1 and CPEB4 were found to be underexpressed in the resistant group of patients, positioning them as possible biomarkers of lack of response to be studied in these patients. The results obtained in this study could provide useful information for the search of new markers of response or failure to therapy.

Keywords: Chronic Myeloid Leukemia, Biomarker.

## Resumen

La LMC es una neoplasia mieloproliferativa crónica que representa entre el 15 - 20% de las leucemias del adulto. Se caracteriza por presentar la translocación recíproca y balanceada entre los cromosomas 9 y 22 [t(9;22)(q34;q11)], que genera la yuxtaposición de los genes BCR y ABL1 originando una proteína oncogénica con actividad de tirosina quinasa incrementada. El desarrollo de los Inhibidores de Tirosina Quinasa (ITKs) ha mejorado notablemente la sobrevida y evolución de la enfermedad debido a su gran efectividad en la inactivación de la proteína oncogénica. El tratamiento de la LMC con ITKs puede inducir respuestas duraderas en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, se observa resistencia primaria y/o adquirida en pacientes tratados con ITKs de primera y segunda generación. Existen varios mecanismos conocidos relacionados al fracaso de la terapia con ITKs, entre ellos la adquisición de mutaciones en el dominio quinasa del ABL1, amplificación del BCR::ABL1 a nivel genómico, sobreexpresión de transcritos o bien mecanismos independientes del BCR-ABL1 como la expresión desregulada de genes. En este sentido, los genes MET, FOXO3 y CPEBs podrían estar involucrados. La relevancia de estos genes en pacientes con LMC durante el tratamiento con ITKs puede ser de gran importancia previo a la suspensión del tratamiento. En este estudio se analizó la expresión de los genes MET, FOXO3, CPEB1, CPEB2, CPEB3 y CPEB4 en pacientes con LMC tratados con ITKs. El gen MET es un receptor de tirosina quinasa transmembrana que media múltiples vías de señalización que promueven angiogénesis, proliferación y supervivencia celular. Por otro lado, FOXO3 es un factor de transcripción que participa en la diferenciación, crecimiento y supervivencia celular. La familia de genes CPEBs reconocen la secuencia consenso de poliadenilación citoplasmática presente en la región 3' no traducida de algunos ARNm y reclutan las maquinarias de represión o de activación de la traducción, regulando de este modo indirectamente la longitud de la cola de poli(A) de sus ARNm targets. Para la realización de este trabajo se obtuvieron muestras de sangre periférica de 35 pacientes y 29 donantes sanos como grupo control. Los pacientes fueron divididos según su respuesta a la terapia en respondedores óptimos (RO) n= 29 y resistentes (RS) n=16. La cuantificación relativa de los transcritos se analizó por PCR en Tiempo Real. MET se encontró subexpresado en el 55% de los pacientes con buena respuesta al tratamiento, indicando que la terapia tendría alguna acción sobre el receptor MET o sus vías de señalización. En contraste, se observó una sobreexpresión de FOXO3 en el mismo grupo de pacientes, lo cual permitiría suponer que este gen participaría en los mecanismos de respuesta al tratamiento de la enfermedad. Por otro lado, los genes CPEB1 y CPEB4 se encontraron subexpresados en el grupo de pacientes resistentes, posicionándose como posibles biomarcadores de falta de respuesta, a estudiar en dichos pacientes. Los resultados obtenidos en este trabajo podrían aportar información útil en la búsqueda de nuevos marcadores de respuesta o falla a la terapia.

Palabras clave: Leucemia Mieloide Crónica, Biomarcador.